

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DANIEL SILVA LEITE

**EFEITOS DE UM DERRAME EXPERIMENTAL DE ÓLEO  
DIESEL SOBRE A ESTRUTURA DAS ASSOCIAÇÕES DE  
NEMATOIDES EM BAIXIOS NÃO VEGETADOS DA BAÍA DE  
PARANAGUÁ (PARANÁ, BRASIL).**

PONTAL DO PARANÁ

2011

**EFEITOS DE UM DERRAME EXPERIMENTAL DE ÓLEO  
DIESEL SOBRE A ESTRUTURA DAS ASSOCIAÇÕES DE  
NEMATOIDES EM BAIXIOS NÃO VEGETADOS DA BAÍA DE  
PARANAGUÁ (PARANÁ, BRASIL).**

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Oceanografia, habilitação em Pesquisa Oceanográfica, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof.º Dr. Paulo da Cunha Lana

Co-orientadora: Dr<sup>a</sup>. Micheli Cristina Thomas

PONTAL DO PARANÁ

2011

**Dedico esse trabalho a minha família,  
que sempre me apoiou e ajudou da melhor maneira possível  
de forma incondicional.**

## **Agradecimentos**

Agradeço em primeiro lugar a minha família, que sempre me apoiou de maneira incondicional nesses anos e em toda a minha vida: sem vocês esse momento não seria possível. Um agradecimento especial a minha avó Noemia, que tenho certeza gostaria muito de estar presente nesse momento especial.

Agradeço ao meu orientador Paulo da Cunha Lana pela oportunidade, suporte, paciência e pelas broncas nos momentos necessários. Aprendi muito nos últimos anos em que tive a chance de estar no laboratório e sem essa convivência minha formação estaria seriamente comprometida.

A minha querida co-orientadora Micheli Cristina Thomas (Mi) pelo apoio, incentivo, conselho e dicas: sem você eu não teria conhecido os nematoides e certamente não estaria apresentando esse trabalho hoje.

Ao professor César de Castro Martins que possibilitou a inclusão das análises de hidrocarbonetos, que certamente enriqueceu muito o trabalho. Também agradeço a colega Manuela Zeglin (Manu) que me ajudou muito na interpretação desses resultados.

Ao Gustavo Fonseca, que me ajudou a realizar o trabalho com um treinamento intensivo na identificação dos nematoides.

Aos membros da banca que certamente vão me ajudar a melhorar o trabalho.

Agradeço a todas as pessoas que colaboraram com as coletas ou com o trabalho pós coletas, independente do dia, tempo ou aulas: Aline (sem você esse trabalho nunca seria possível!!!! Muito obrigado por me ajudar, até mesmo quando você não tinha a menor razão para isso), Vitão com a super lanterna para as coletas noturnas, Abraão pela ótima condução das embarcações, Marco que chegou a me ajudar até mesmo no ano novo, Josi, Daphne, Paulo, Fabi, Ícaro, Jenyfer, Augusto, Kalina, Seu Marco, Decko. A ajuda de vocês foi indispensável no reconhecimento das áreas, montagem do experimento e nas coletas.

Aos colegas benticos: Ve, Kalina, Léo, Maik, Marco, Madeira, Mi, Josi, Tay, Gabi, Homero, Maia, Steffany, Daphne, Ju, João, Natalia, Paulo, Aline, Fabi e Gisele. Obrigado pela convivência sempre harmoniosa e agradável!!! Vocês tornaram esse trabalho muito mais

divertido!!

Aos colegas e amigos Léo (Leonardo Sandrini) e Zé (José Hugo) pela imprescindível ajuda com o universo estatístico!!! Se não fosse por vocês esse trabalho não seria possível.

Aos colegas Aline e Marco, sempre dispostos a ajudar!!! Sem vocês esse trabalho também não seria possível!!!

Ao GRR 2007!!!!

A Vila!!!! Muito brigado pela convivência: Tio Guigo, Lily, Gisele, Bode (Marcos Henrique), Evandro, Dafne, Ícaro, Mineiro (Henrique), Fer, Boca (André), Nina, Lai e JR (Gui). Vocês tornaram esse ano muito mais divertido!!

A Lai, que tem sido uma ótima companheira: Obrigado por aguentar minhas chatices e maluquices!!!

A todas as pessoas com que já morei junto: Boca, Coala, Tuan, Queiroz, Mineiro e Juninho!! Obrigado pela paciência em me aguentar!!!

Aos funcionários do CEM, em especial Seu Antonio, Dona Ester, Dona Izis, Liciane, Seu Marco.

Aos amigos mais que especiais que ficaram de fora: Gringão, João, Colono, Thiaguera, Japa (Gustavo) e vários outros que não vou me lembrar agora. Vocês me ajudaram muito a concluir essa etapa da vida.

E Agradeço a qualquer pessoa que por esquecimento tenha ficado de fora dessa seção!!!! Sem a ajuda, orientação, amizade e companhia de todos vocês esse trabalho nunca seria possível!!!



## RESUMO

A poluição marinha por hidrocarbonetos vem atraindo grande interesse da comunidade científica e da opinião pública, principalmente após recentes vazamentos. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do óleo diesel sobre a estrutura de associações de nematoides em baixios entre - marés não vegetadas. Foi adotada uma estratégia amostral do tipo M-BACI aplicada em três áreas distintas ao longo do Canal da Cotinga, na Baía de Paranaguá (Paraná, Brasil). Cada área compreendia um bloco experimental, com tratamentos impacto e controle. Em cada quadrat dos tratamentos impacto foram despejados, de maneira uniforme, 2500 ml de óleo diesel. Dois dias após a perturbação o derrame experimental não causou reduções significativas do número de táxons, da densidade total de nematoides ou da densidade de táxons dominantes ou constantes. Por outro lado, foi observada marcada heterogeneidade ambiental entre áreas, o que pode explicar as diferenças na velocidade de respostas dos nematoides, como aconteceu na área 2, que apresentou uma marcada redução de nematoides no primeiro dia pós-derrame seguida por uma recuperação da densidade já no segundo dia. Os resultados encontrados reforçam a idéia de que, apesar de considerados bons indicadores de estresse ambiental, os nematoides de vida livre marinha são capazes de tolerar baixas concentrações de hidrocarbonetos. Não foram identificadas respostas significativas devido ao derrame experimental de óleo diesel, sugerindo que as associações locais são persistentes ou resilientes a pequenos eventos de contaminação. Esses resultados também reforçam a necessidade de serem utilizados delineamentos experimentais robustos, para que não sejam confundidos os efeitos do impacto com a variabilidade natural esperada, o que dificulta a detecção da perturbação.

**Palavras Chave:** *Nematoides*, *Derrame experimental*, *Óleo Diesel*, *Experimento manipulativo em campo*, *Terschellingia sp*, *Spirinia sp*, *Associação de nematoides*.

## ABSTRACT

Oil contamination of marine environments has attracted great interest from the scientific community and public opinion, especially after recent major leaks. The aim of this study was to evaluate the effects of diesel oil on the structure of nematode associations in the intertidal muddy flats of a subtropical estuary. We adopted a M-BACI design applied in three distinct areas along the Cotinga Channel in Paranaguá Bay (Paraná, Brazil). Each area included an experimental block, with both impact and control treatments. In each quadrat from impact treatments 2500 ml of diesel oil were uniformly dumped. Two days after the experimental spill no significant changes were detected in the number of taxa, total nematode density or density of dominant or constant taxa. There was a marked heterogeneity among areas, which may explain differences in nematode responses, as in Area 2, where a marked population reduction in the first day after the spill was followed by fast recovery already in the second day. Our results reinforce the idea that although considered good indicators of environmental stress in the literature, free-living marine nematodes are able to tolerate low concentrations of hydrocarbons and to persist in moderately contaminated areas. Our results also reinforce the need for robust experimental designs, so that experimental effects are not confused with effects associated to natural variability, which makes it difficult to detect the disturbance.

Keywords: Nematodes, Experimental spill, diesel oil, field experiment, *Terschellingia* sp, *Spirinia* sp, nematode association.



**Effects of an experimental spill of diesel oil on the structure of nematodes associations on a muddy tidal flat of Paranaguá Bay.**

**Efeitos de um derrame experimental de óleo diesel sobre a estrutura das associações de nematoides em baixios não vegetados da Baía de Paranaguá (Paraná, Brasil).**

De acordo com as novas normas regimentais do curso de Oceanografia da Universidade Federal do Paraná, esta monografia é apresentada na forma de artigo.

**Revista pretendida:** Panamerican Journal of Aquatic Sciences, INSSN (1809-9009).

Daniel Silva Leite<sup>a\*</sup>, Paulo da Cunha Lana <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná - Caixa Postal 50.002, 83255-000, Pontal do Paraná, Paraná, Brazil

\* Corresponding author: silvaleite.daniel@gmail.com;

phone: +554198352805

## Sumário

Introdução	11
Materiais e Métodos	13
<i>Área de estudo</i>	13
<i>Delineamento amostral e procedimentos de campo</i>	14
<i>Amostragem biológica</i>	14
<i>Amostragem de variáveis físico-químicas</i>	15
<i>Processamento das amostras</i>	15
<i>Análise dos dados</i>	16
Resultados	18
<i>Características ambientais</i>	18
<i>Variação dos hidrocarbonetos alifáticos como expressão do nível de contaminação</i>	21
<i>Resposta dos nematoídes</i>	22
Discussão	27
Conclusão	31
Referências Bibliográficas	32

## INTRODUÇÃO

Acidentes envolvendo vazamentos de petróleo, como os do Torrey Canyon, na Inglaterra, Tampico Maru, nos Estados Unidos e o Amoco Cadiz, na França (BOTELLO & MACKO, 1982), e mais recentemente o maior vazamento da história em um poço no Golfo do México entre abril e julho de 2010 (MARIANO ET AL., 2011) atraíram o interesse do público em geral e da comunidade científica para a contaminação dos oceanos por hidrocarbonetos. Acidentes ocorridos no Brasil, como os do navio petroleiro Norma da Petrobrás que liberou nafta na Baía de Paranaguá em 2001 e do navio chileno Vicuña que liberou metanol, óleo diesel e óleo bunker nesta mesma baía em 2004, acentuam a necessidade de se entender melhor os efeitos desse tipo de poluição sobre a biota. Em geral as concentrações de hidrocarbonetos nos oceanos são baixas em comparação com ambientes estuarinos (BOTELLO & MACKO, 1982). Áreas estuarinas são consideradas mais vulneráveis aos impactos de óleo, uma vez que as suas características de confinamento podem favorecer o acúmulo de hidrocarbonetos, principalmente em áreas vegetadas entre-marés (SANZ-LÁZARO & MARÍN, 2009).

Os efeitos de hidrocarbonetos sobre a macrofauna benthica já foram investigados extensivamente, com abordagens descritivas (GÓMEZ-GESTEIRA & DAUVIN, 2000; EDGAR et al., 2003; ZENETOS et al., 2004; MORALES-CASELLES et al., 2008; OCON et al., 2008; ANDERSEN et al., 2008), experimentos em campo (SCHRATZBERGER et al., 2003; FARACO & LANA, 2003; LU & WU, 2006) e laboratório (BHATTACHARYYA et al., 2003) ou em experimentos utilizando meso ou microcosmos (CARMAN et al., 2000; CHUNG et al., 2004; ). Apesar de vários trabalhos tratarem dos efeitos da poluição por hidrocarbonetos sobre a macrofauna benthica, menos trabalhos foram feitos sobre os efeitos na meiofauna (FLEEGER & CHANDLER, 1983; MAHMOUDI et al., 2005; BEYREM et al., 2009; ANSARI et al., 2002; ANSARI et al., 2010; BOUFAHJA et al., 2011).

Os organismos meiofaunais em geral e os nematóides em particular, são considerados bons indicadores de contaminação (FLEEGER & CHANDLER, 1983; KENNEDY & JACOBY, 1999) por diversas razões, que incluem a sua abundância, elevada diversidade de táxons, o curto tempo de geração, desenvolvimento benthico direto, são os metazoários mais diversos e numericamente dominantes em ambientes marinhos. Ocorrem em qualquer tipo de sedimento, em diferentes condições climáticas e em ambientes com elevadas concentrações de poluentes. Além disso, são membros permanentes do bentos e vivem em contato direto com os componentes dissolvidos na água intersticial através de sua cutícula permeável (PLATT & WARWICK, 1980; WARWICK, 1981; HEIP et al., 1985; VRANKEN & HEIP, 1986; VRANKEN et al., 1986). Outra vantagem de se utilizar os nematoides em estudos de

impactos ambientais é que mesmo pequenos volumes de unidades amostrais dos sedimentos trazem informações com significância estatística (PLATT & WARWICK, 1980). Neste contexto as respostas das associações de nematoides podem fornecer evidências mais robustas da contaminação por óleo do que aquelas obtidas de outros animais.

Os efeitos dos derrames de óleo sobre os nematoides marinhos são em geral contraditórios e pouco consistentes. As respostas parecem ser dependentes da quantidade de óleo derramado, das características do ambiente e dos grupos taxonômicos utilizados (FLEEGER & CHANDLER, 1983). Há evidências de que alguns táxons não apresentam mortalidade após os impactos (FLEEGER & CHANDLER, 1983). Por outro lado, reduções na densidade da meiofauna já foram repetidamente reportadas após derrames de óleo (ELGREN et al., 1983; BOUCHER, 1980; DANOVARO et al., 1995; MAHMOUDI et al., 2005) ou pela contaminação por óleos lubrificantes minerais e sintéticos (BEYREM et al., 2009). Por outro lado, já foi reportada uma resposta positiva dos nematoides a derrame de óleo em experimentos realizados em marismas da Louisiana (FLEEGER & CHANDLER, 1983).

Na maioria das vezes, as análises de impacto que envolvem derrames de óleo são realizadas após os acidentes e consistem basicamente nas descrições das respostas biológicas das associações animais e vegetais, após o impacto. Raramente o contexto pré-perturbação é conhecido adequadamente, o que dificulta o estabelecimento de controles confiáveis e compromete o teste de hipóteses e a proposição de inferências sobre a presença de óleo e as respostas biológicas. Abordagens experimentais, em micro e meso escala, são mais adequadas para avaliar as respostas da biota, por causa do controle experimental associado, podendo assim contribuir para um melhor conhecimento das causas dos problemas e para suas eventuais soluções (GLASBY & UNDERWOOD, 2006).

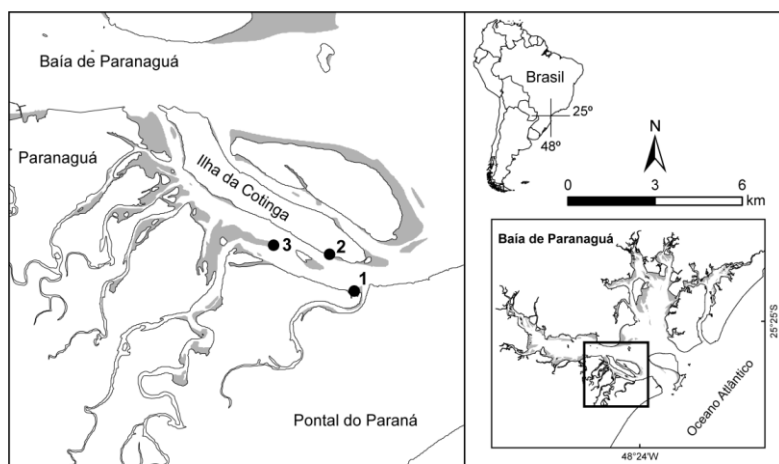
Nesse contexto, o presente trabalho testa experimentalmente a hipótese de nulidade de que associações de nematoides de uma planície de marés não terão sua composição e padrões de abundância afetados por derrame de óleo em pequenas escalas de espaço e tempo. Seu objetivo é avaliar as respostas de associações de nematoides de baixios entre-marés de um estuário subtropical a um derrame experimental pontual e localizado de óleo diesel marítimo, expressas por variações no número de táxons, densidade total e densidade de táxons dominantes e constantes.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Área de estudo*

O Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) situado na costa do Estado do Paraná ( $48^{\circ}25'W$ ,  $25^{\circ}30'S$ ) é formado basicamente por dois eixos, as Baías de Paranaguá e Antonina (orientadas a leste-oeste) e as Baías de Laranjeiras e Pinheiros (orientadas a norte-sul). Esse sistema compreende uma diversidade de ecossistemas estuarinos e costeiros, incluindo restingas, manguezais, marismas, costões rochosos e extensas planícies de marés (LANA et al, 2001). As Baías de Paranaguá e Antonina destacam-se por maior urbanização presente em suas margens, por abrigarem um terminal de combustível da Petrobrás e pela presença de dois portos, sendo que o de Paranaguá está entre os principais do país (NOERNBERG & LANA, 2002). O Canal da Cotinga (Figura 1) possui cerca de 20 km de extensão e recebe a drenagem dos rios Maciel, Correias, Almeidas, Guaraguaçu e Itiberê. Noernberg et al. (2006) classificaram a região como sub-estuário da Cotinga, com base em características hidrográficas e morfológicas. O sub-estuário é composto por muitos meandros de rios com extensas planícies alagadas, o que favorece a formação de baixios não vegetados, principalmente pelo aporte de sedimentos provenientes dos fluxos de marés no sentido leste-oeste. Efluentes domésticos, provenientes da cidade de Paranaguá, onde o esgoto municipal ainda é despejado *in natura* no estuário, chegam ao Canal da Cotinga pelo rio Itiberê.

As planícies de maré utilizadas no experimento localizam-se ao longo do Canal da Cotinga, com a área experimental mais interna próximo à desembocadura do rio Guaraguaçu, a intermediária na Ilha Rasa e a mais externa próximo à desembocadura do rio Maciel.



**Figura 1** Mapa do Complexo Estuarino de Paranaguá com a localização dos baixios entre-marés utilizados no experimento.

### *Delineamento experimental e procedimentos de campo*

Foi empregado o delineamento M-BACI (Multiple Before and After / Control and Impact), mais apropriado para análises de impactos planejados, por incluir múltiplos controles e áreas impactadas (KEOUGH & MAPSTONE, 1997). As amostragens temporais, igualmente replicadas entre tempos antes e após o derrame experimental, asseguraram a correta interpretação das interações entre o tempo e espaço. A adequada replicação espacial e temporal garante que as estimativas obtidas sejam mais confiáveis (GLASBY & UNDERWOOD, 1996).

Blocos experimentais foram estabelecidos em três áreas de baixios entre - marés do Canal da Cotinga. Cada área incluiu um bloco experimental, composto pelo tratamento impacto (com derrame de óleo diesel) e o respectivo tratamento controle. Os blocos foram posicionados na região entre - marés, paralelos à linha de costa, com os controles a 50 metros dos tratamentos impactos, para reduzir o risco de contaminação cruzada. Cada tratamento foi formado por 12 quadrats de 35 por 35 cm, dispostos em fileiras, com uma área fixa de circulação para evitar pisoteio durante as amostragens. O experimento realizado foi do tipo agudo, não cumulativo, com a simulação de um único impacto no dia 0 durante uma maré de sizígia, no início de 2010, seguido pelo acompanhamento das respostas biológicas entre os tratamentos em escalas temporais pré-estabelecidas, dois dias antes (-2, -1) e dois dias depois do impacto (1, 2). Em cada quadrat do tratamento impacto foram despejados com regador, de maneira uniforme, 2500 ml de óleo diesel marítimo, combustível usado por embarcações de pequeno e médio porte e pelos motores auxiliares de embarcações de grande porte.

#### *Amostragem biológica*

Quatro réplicas ou unidades amostrais foram retiradas aleatoriamente de cada tratamento controle e impacto, antes e depois do derrame (CA, CD e IA, ID), seguindo o esquema amostral da Figura 2 para a análise de fauna, utilizando corer de 2,5 cm de diâmetro por 5 cm de altura (seringas de 50 cm<sup>3</sup> adaptadas), e fixadas em formol salino a 4%. Foram tomadas também três réplicas de amostras de sedimento para as análises dos pigmentos fotossintéticos, congeladas em freezer até as análises de laboratório.

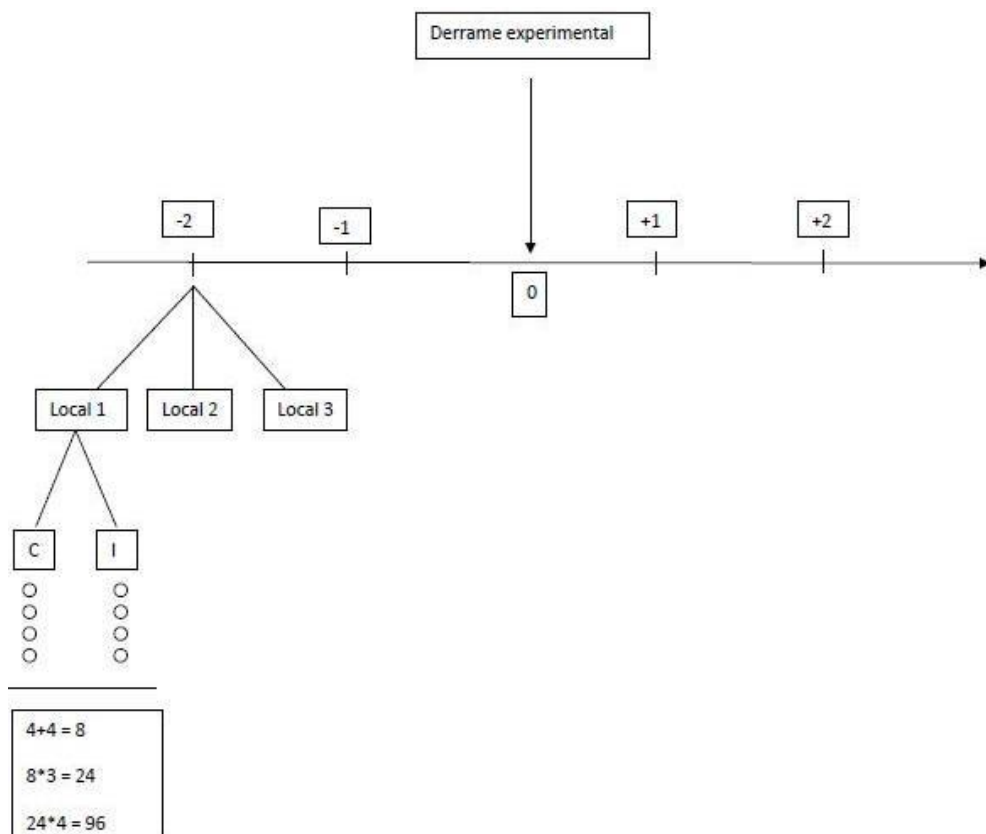


Figura 2 Esquema amostral utilizado no experimento.

### *Amostragem de variáveis físico-químicas*

Foram coletadas amostras de sedimento antes e depois do derrame experimental em cada um dos tratamentos, para análises granulométricas. Para estimar as concentrações de hidrocarbonetos e matéria orgânica foram coletadas amostras de sedimento antes do impacto e um dia após o impacto, em um quadrat adicional em cada área. Os níveis de contaminação por hidrocarbonetos nos sedimentos foram analisados no laboratório de Geoquímica Orgânica e Poluição Marinha (LaGPoM) do Centro de Estudos do Mar, utilizando a metodologia descrita por UNEP (1991) e MARTINS et al., (2004). Foram estimadas as concentrações de alifáticos totais, razão pristano e fitano, razão pristano e C17, razão fitano e C18, razão mistura complexa não resolvida e alifáticos totais, associação de carbono de cadeia longa com de cadeia curta (TAR) e associação de alcanos de cadeia impar e pares (IPC).

### *Processamento das amostras*

As amostras de meiofauna foram processadas segundo o procedimento proposto por SOMERFIELD & WARWICK (1996). Inicialmente, as amostras fixadas em formol a 4% foram lavadas em peneira com malha de 63  $\mu$  e o material retido flotado com utilização de sílica coloidal (Ludox TM 50) diluída à gravidade específica de 1,15 durante 40 minutos. O material sobrenadante foi retirado e novamente passado na peneira de 63  $\mu$ . Esse procedimento foi repetido 3 vezes com o sedimento decantado. O material sobrenadante final

de cada amostra foi transferido para uma placa de Dollfus e 100 indivíduos, quando existentes ou a totalidade dos indivíduos quando inferior a 100, foram retirados com auxílio de estilete e colocados em cadinhos para diafanização (DE GRISSE, 1969). Após esse procedimento, 10 indivíduos foram depositados em cada lâmina previamente preparada com um círculo de parafina, contendo uma gota de glicerina.

Ao final foi acrescentada uma lamínula e o conjunto aquecido em chapa quente para fixação da lamínula pela parafina. Os nematoides presentes nas lâminas permanentes foram contados e identificados em nível de gênero, sob microscópio estereoscópico, a partir da chave de identificação de PLATT & WARWICK (1983, 1988) e WARWICK et al. (1998). A abundância total das espécies foi calculada a partir da relação da frequência de cada espécie, entre os 100 indivíduos separados, com o total de cada amostra.

O teor de umidade foi obtido através da diferença entre o peso úmido e o peso seco das amostras. As análises granulométricas para a fração arenosa foram efetuadas segundo o método proposto por SUGUIO (1973). Para a fração fina (silte + argila, menores que 62  $\mu\text{m}$ ) foi realizado o método de pipetagem proposto por CARVER (1971). As análises granulométricas foram realizadas com o auxílio do software SysGran (CAMARGO, 2006).

A concentração de matéria orgânica foi medida pela diferença entre os pesos inicial e final após queima de sedimento a 550°C durante 1 hora. Para as análises granulométricas, as amostras foram peneiradas com malhas variando entre -1,5 e 4,0 phi ( $\phi = -\log_2$  diâmetro mm) e a fração silte-argila foi processada por pipetagem (SUGUIO, 1973). Em cada dia de amostragem, foi medida a salinidade da água com o auxílio de refratômetro portátil e a temperatura do sedimento com um termômetro em graus Celsius.

Os pigmentos foram extraídos das amostras de sedimento com 10 ml de acetona 100% (STRICKLAND e PARSONS, 1972). As concentrações de clorofila a e feopigmentos foram estimadas através da equação de LORENZEN (1967).

### *Análise dos dados*

As variáveis biológicas testadas foram as médias da densidade total de nematoides, o número de táxons, as densidades dos táxons dominantes (três táxons que compuseram cerca de 57% das densidades de todas as amostras) e as densidades de táxons constantes (três táxons que compuseram cerca de 15% da densidade total mas que estiveram presentes em praticamente todas as amostras), sempre referidas à área amostral de 10  $\text{cm}^2$ .

A significância das diferenças entre médias ao longo do espaço e do tempo foi avaliada através do modelo linear  $VD = BA + CI + BA * CI + T(BA) + CI * T(BA) + BA * S(CI)$ ,



onde VD é a variável; BA é o fator antes-depois do impacto; CI é o fator controle-impacto; T é o fator tempo (dias) e S é o fator espacial (áreas). Neste modelo M- BACI (KEOUGH & MAPSTONE, 1997), S é aleatório enquanto T, BA e CI são fixos.

A ANOVA resultante do modelo M-BACI foi construída no ambiente R e as estimativas dos quadrados médios esperados foram feitas de acordo com KEOUGH & MAPSTONE,(1997). As probabilidades relacionadas às diferenças entre os tratamentos foram calculadas segundo a razão  $F = BA*CI / BA*S(CI)$ , como por KEOUGH & MAPSTONE,(1997).

Para verificar a homocedasticidade das variâncias para as análises univariadas (ANOVAs) realizadas sobre a densidade total de nematoides, número de táxons e densidades dos táxons dominantes e constantes) foi aplicado o teste de Cochran. Quando os dados foram considerados homocedásticos nenhuma transformação foi realizada. Foram necessárias transformações nos dados brutos de *Parodontophora* sp (log 1p) e *Pseudolella* sp (raiz quadrada) além de ter sido realizada uma transformação para os feopigmentos (raiz quadrada).

Uma análise de proximidade ou escalonamento multidimensional não-métrico (n-MDS) foi realizada para visualização das tendências de distribuição das associações de nematoides entre os tratamentos e os períodos, a partir da construção de matrizes de similaridade, usando o índice de Bray-Curtis. Devido ao elevado número de réplicas amostrais, foi considerada a média das quatro réplicas de cada tratamento antes da execução da análise de proximidade. A significância das diferenças entre tratamentos observada no nMDS foi testada por uma análise de variância multivariada permutacional (ANDERSON, 2001) com a aplicação do programa PERMANOVA, versão 1.6 (ANDERSON, 2005).

## Resultados

### *Características ambientais*

Os baixios de maré amostrados são compostos basicamente por areias finas e muito finas com teores moderados de finos (entre 8 e 35%) e baixos teores de matéria orgânica (entre 1,25 e 4,76%). A composição sedimentológica diferiu entre áreas, com a área 1 apresentando maiores concentrações de areia fina do que as demais (Tabela I).

**Tabela I** Percentual das frações granulométricas e teores de matéria orgânica antes e depois do impacto; Controle Antes (CA); Controle Depois (CD); Impacto Antes (IA) e Impacto Depois (ID).

%	Área 1				Área 2				Área 3			
	CA	CD	IA	ID	CA	CD	IA	ID	CA	CD	IA	ID
Areia Grossa	0,000	0,000	0,010	0,000	0,100	0,120	0,090	0,040	0,060	0,010	0,000	0,000
Areia Média	0,200	0,220	0,140	0,090	0,040	0,090	0,040	0,040	0,150	0,040	0,020	0,020
Areia Fina	28,970	35,700	26,220	8,310	6,240	6,330	6,200	14,270	1,180	0,870	14,210	20,320
Areia Muito Fina	57,620	55,090	54,800	82,250	75,780	82,140	84,860	73,400	78,740	87,660	77,380	74,960
Silte	9,550	7,170	6,960	3,100	12,970	7,690	5,850	4,350	7,630	8,80	3,840	2,900
Argila	3,660	1,820	11,860	6,230	4,520	3,540	2,620	7,900	12,240	2,610	4,540	1,800
M.O	3,610	2,600	2,950	4,230	4,760	2,180	3,480	2,780	2,930	1,250	4,680	2,170

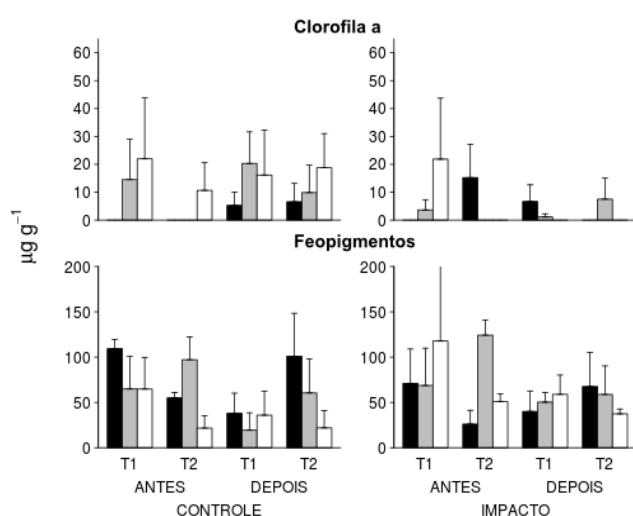
As temperaturas da água e do sedimento foram praticamente constantes em todo o período de estudo. A temperatura da água variou entre 28,0 e 29,0°C e do sedimento variou entre 27,5 e 19,2 °C (Tabela II). A salinidade apresentou um gradiente, com a Área 1, mais externa, apresentando maiores valores (30) e a Área 3, mais interna, os menores valores, em torno de 22 (Tabela II).

**Tabela II** Variação da salinidade e da temperatura da água e temperatura do sedimento durante o período de estudo.

Antes					Depois				
Dia	Área	Salinidade	T (C°) Água	T(C°) Sedimento	Dia	Área	Salinidade	T (C°) Água	T(C°) Sedimento
-2	1	26,000	28,000	28,300	1	1	30,000	28,000	27,500
-2	2	23,000	28,000	28,300	1	2	27,500	29,000	28,950
-2	3	22,500	28,000	28,400	1	3	25,000	28,000	27,950
-1	1	26,000	29,000	28,500	2	1	29,500	29,000	29,250

-1	2	24,500	28,000	28,200	2	2	28,000	29,000	28,650
-1	3	22,500	28,000	28,400	2	3	25,000	29,000	28,850

As concentrações de clorofila-a e feopigmentos não diferiram significativamente entre tempos, tratamentos ou áreas nas escalas amostrais adotadas ( $p > 0,05$  em todos os casos). As concentrações de feopigmentos foram mais altas do que as de clorofila-a em todos os casos, enquanto as concentrações de clorofila-a foram iguais à zero em vários pontos.



**Figura 3** Comparação entre as médias (+ EP) dos valores das concentrações de clorofila-a e feopigmentos nas áreas controle e impacto em todo o período estudado. Área 1 representada pela cor preta, área 2 representada pela cor cinza e área 3 resetada pela cor branca.

**Tabela III** Análises de variância das concentrações de Clorofila-a e Feopigmentos. Existem 2 tratamentos (Tr) e 2 períodos (Pe). Esses dois fatores são fixos. Existem 3 baixios para o Controle e 3 baixios para o Impacto; esses são fatores aleatórios de locais (Lo) aninhados nos tratamentos. Foram feitas 2 amostragens antes e 2 amostragens depois; esses representam um fator fixo de Tempo aninhado no Período. Foram feitas  $n=3$  réplicas em cada local e tempo de coleta.

Clorofila-a					Feopigmentos		
	GI	Média dos quadrados	F Value	Pr(>F)	Média dos quadrados	F Value	Pr(>F)
Tr	1	578,930	1,900	0,240	13,007	0,585	0,486
Pe	1	2,390	0,028	0,875	46,059	7,060	0,056
Tr:Lo	4	305,600	1,100	0,367	22,213	1,303	0,282
Pe:Te	2	168,930	0,905	0,442	7,433	0,521	0,612

Tr:Pe	1	382,290	4,480	0,102	5,894	0,903	0,396
Tr:Pe:Te	2	35,310	0,189	0,831	5,204	0,365	0,705
Tr:Lo:Pe	4	85,320	0,457	0,765	6,524	0,457	0,765
Tr:Lo:Pe:Te	8	186,590	0,672	0,713	14,248	0,835	0,576
Resíduo	48	277,570			17,051		

A PCA sugere que as três áreas amostradas são heterogêneas, com distintos fatores ambientais assumindo maior ou menor importância na composição de cada eixo (Figura 3). Na Área1 as variáveis ambientais que melhor explicaram o eixo 1 (responsável por 48% da variabilidade) foram a salinidade, a concentração de areia muito fina, a concentração de matéria orgânica e a concentração de argila, enquanto a concentração de areia grossa e de clorofila-a compuseram o eixo 2, responsável por 29% da variação. Na Área2 as variáveis ambientais que melhor explicaram o eixo 1 (responsável por 49% da variabilidade) foram a temperatura da água, salinidade, concentração de clorofila-a, temperatura do sedimento e concentração de areia média enquanto as concentrações de silte, argila, areia fina, areia muito fina e areia grossa compuseram o eixo 2, responsável por 36% da variação. Na Área3 as variáveis ambientais que melhor explicaram o eixo 1 (responsável por 48% da variabilidade) foram a concentração de areia fina, temperatura da água, concentração de clorofila-a e concentração de silte enquanto a concentração de areia média, a concentração de areia grossa, a concentração de argila, a concentração de matéria orgânica e a concentração de feopigmentos compuseram o eixo 2, responsável por 30% da variação.



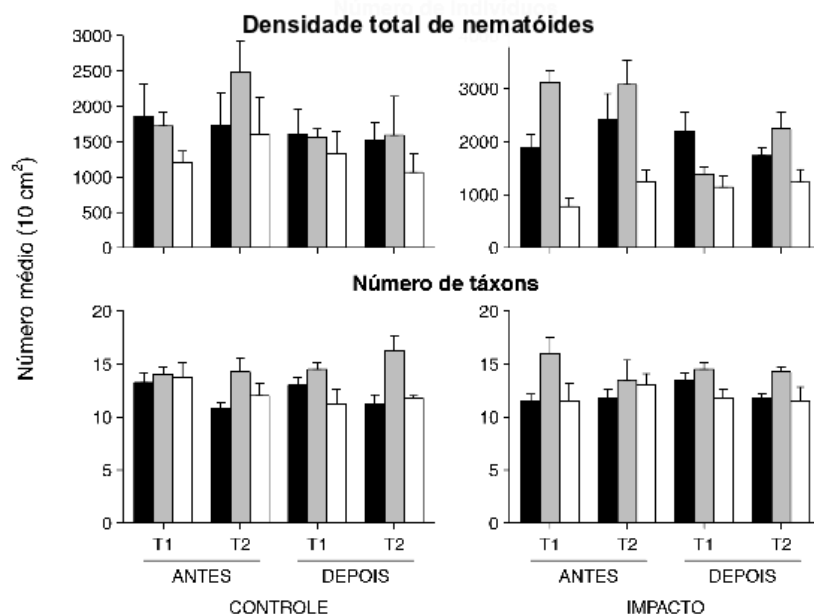
A razão TAR (Terrestrial Aquatic Ratio) auxilia na distinção da origem da matéria orgânica natural, entre marinha e terrestre, presente no ambiente marinho. Altos valores indicam a predominância de matéria orgânica de origem terrígena (PETERS et al., 2005). Nos tratamentos controle, essa razão variou de 4,35 a 20,9 (média:  $11,5 \pm 6,84$ ) e nas áreas impacto de 0,84 a 19,7 (média:  $7,7 \pm 8,07$ ), indicando que a matéria orgânica natural é oriunda de fontes terrestres em todas as áreas.

**Tabela IV** Concentrações e parâmetros de avaliação para alifáticos totais nos sedimentos das áreas de estudo (A1, A2, A3), entre os tratamentos impactos (I) e controles (C) antes (Antes) e logo após o impacto agudo (+1). Alifáticos totais ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  de sedimento seco, AT); Razão pristano e fitano (P:F); Razão Pristano e  $\text{C}^{17}$  (P:C<sup>17</sup>); Razão Fitano e  $\text{C}^{18}$  (F:C<sup>18</sup>); Razão mistura complexa não resolvida e alifáticos totais (UCM:AT); TAR, associação de carbono de cadeia longa ( $\text{C}^{27}$ ,  $\text{C}^{29}$ ,  $\text{C}^{31}$ ) com de cadeia curta ( $\text{C}^{15}$ ,  $\text{C}^{17}$ ,  $\text{C}^{19}$ ); IPC, associação de alcanos de cadeia longa ímpar ( $\text{C}^{27}$ ,  $\text{C}^{29}$ ,  $\text{C}^{31}$ ) e pares ( $\text{C}^{26}$ ,  $\text{C}^{28}$ ,  $\text{C}^{30}$ ).

	AT	P:F	P:C <sup>17</sup>	F:C <sup>18</sup>	UCM:AT	TAR	IPC
A1C(Antes)	1,883	0,830	0,090	3,000	ND	4,350	5,810
A1C(+1)	1,927	0,580	0,110	4,000	ND	8,400	5,840
A1I(Antes)	3,978	0,920	0,050	3,430	ND	2,570	5,640
A1I(+1)	10,690	1,500	1,290	1,480	3,920	3,950	4,900
A2C(Antes)	2,767	0,630	0,130	2,670	ND	20,900	6,310
A2C(+1)	2,554	0,900	0,120	1,670	ND	10,000	6,120
A2I(Antes)	2,311	0,710	0,140	3,500	ND	19,700	6,400
A2I(+1)	30,880	1,500	1,040	0,700	3,490	0,840	2,380
A3C(Antes)	1,422	0,500	0,160	6,000	ND	20,600	5,910
A3C(+1)	1,844	0,500	0,040	3,330	ND	4,650	5,790
A3I(Antes)	2,665	0,450	0,150	2,200	ND	18,400	5,870
A3I(+1)	16,424	1,630	1,000	0,680	3,280	1,020	2,620

### *Resposta dos nematoides*

Foram identificados aproximadamente 10000 indivíduos, pertencentes a 33 gêneros distintos. Os gêneros mais abundantes foram *Terschellingia* sp, *Spirinia* sp e *Sabatieria* sp. Não foi possível encontrar um padrão claro de diminuição da densidade total de nematoides ou do número total de táxons encontrados (Figura 3). No entanto ficou evidente uma brusca diminuição na densidade total de nematoides após o impacto na Área 2, seguida de rápida recuperação já no segundo dia.



**Figura 5** Variação das médias (+EP) da densidade total de nematoides e número total de táxons nas áreas controle e impacto em todo período estudado. Área 1 representada pela cor preta, área 2 representada pela cor cinza e área 3 representada pela cor branca.

A densidade total de nematoides não sofreu variações significativas entre períodos (dias antes-depois) do experimento ou entre os diferentes tratamentos. A principal fonte de variabilidade também foi espacial, com diferenças significativas entre áreas (Tabela V).

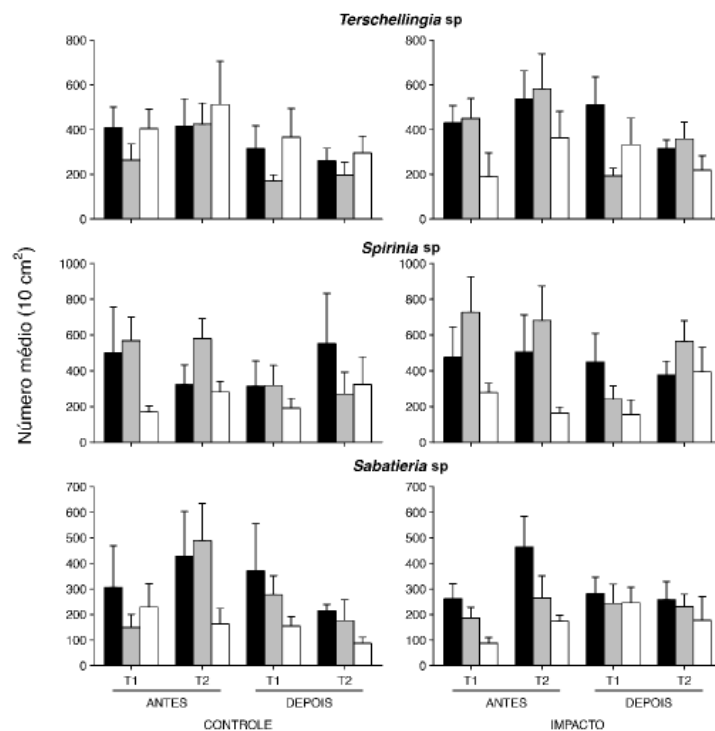
Da mesma forma, o número de táxons não sofreu variações significativas antes e depois do impacto nos dois tratamentos. As únicas interações significativas foram detectadas entre áreas. Ou seja, as diferenças entre áreas foram a principal fonte de variabilidade, mostrando-se mais importantes do que diferenças associadas ao derrame (Tabela V).

**Tabela V** Análises de variância dos resultados encontrados para a densidade total de nematóide e número e táxons encontrados. Existem 2 tratamentos (Tr) e 2 períodos (Pe). Esses dois fatores são fixos. Existem 3 baixios para o Controle e 3 baixios para o Impacto; esses são fatores aleatórios de locais (Lo) aninhados nos tratamentos. Foram feitas 2 amostragens antes e 2 amostragens depois; esses representam um fator fixo de Tempo aninhado no Período. Foram feitas n= 4 réplicas em cada local e tempo de coleta.

Densidade total de nematoides					Número de táxons		
	Gl	Média dos quadrados	F Valor	Pr(>F)	Média dos quadrados	F Valor	Pr(>F)
Tr	1	1708800,667	0,380	0,571	0,375	0,011	0,923
Pe	1	3400548,167	2,809	0,169	1,69E-28	3,37E-29	1,000
Tr:Lo	4	4500681,208	10,379	***	35,563	8,002	***
Pe:Te	2	662541,333	1,74	0,236	4,271	0,845	0,464
Tr:Pe	1	77520,667	0,064	0,813	1,55E-28	3,09E-29	1,000
Tr:Pe:Te	2	107506,833	0,282	0,761	3,021	0,598	0,573
Tr:Lo:Pe	4	1210545,042	3,179	0,077	5,000	0,990	0,465

Tr:Lo:Pe:Te	8	380769,958	0,878	0,539	5,052	1,137	0,350
Resíduo	72	433621,833			4,444		

Não houve qualquer variação significativa na densidade dos táxons dominantes que pudesse ser inequivocamente atribuída ao derrame experimental (Figura 4).



**Figura 6** Comparação das médias (+EP) de densidades dos táxons dominantes nas áreas controle e impacto em todo o período de estudo. Área 1 representada pela cor branca, área 2 representada pela cor cinza e área 3 representada pela cor branca.

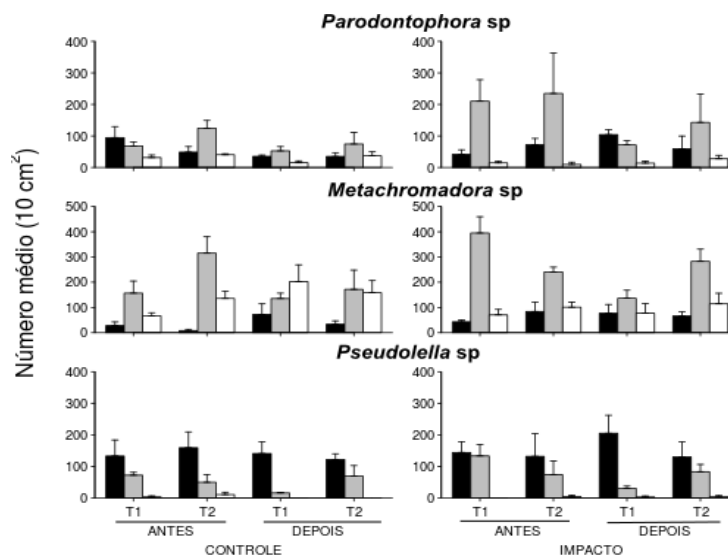
Foi detectada diferença significativa na densidade de *Terschellingia* sp entre períodos, independente dos tratamentos ou das áreas (Tabela VI), provavelmente como reflexo de alguma alteração ambiental que afetou todas as áreas de forma similar. Foram detectadas diferenças significativas na densidade de *Sabatieria* sp entre áreas e tempos de coleta (Tabela VI), independente do tratamento. A principal fonte de variabilidade de *Spirinia* sp foi igualmente o gradiente espacial.

**Tabela V** Análises de variância para os resultados encontrados para as densidades médias dos gêneros numericamente dominantes (*Terschellingia* sp, *Sabatieria* sp e *Spirinia* sp). Existem 2 tratamentos (Tr) e 2 períodos (Pe). Esses dois fatores são fixos. Existem 3 baixios para o Controle e 3 baixios para o Impacto; esses são fatores aleatórios de locais aninhados nos tratamentos. Foram feitas 2 amostragens antes e 2 amostragens depois; esses representam um fator fixo de Tempo aninhado no Período. Foram feitas n= 4 réplicas em cada local e tempo de coleta..



<i>Terschellingia</i>					<i>Sabatierias</i>			<i>Spiriniasp</i>		
sp					p					
	Gl	Média dos quadrados	F Valor	Pr(>F)	Média dos quadrados	F Valor	Pr(>F)	Média dos quadrados	F Valor	Pr(>F)
Tr	1	34352,667	0,353	0,585	4959,375	0,048	0,837	64325,260	0,223	0,661
Pe	1	348968,167	11,256	***	39366,000	2,501	0,189	204333,760	1,605	0,274
Tr:Lo	4	97387,417	2,399	0,058	103005,344	3,093	***	287923,083	3,498	***
Pe:Te	2	89347,083	3,923	0,065	128509,688	5,243	***	115620,052	2,523	0,141
Tr:Pe	1	6337,500	0,204	0,675	39528,167	2,511	0,188	6256,510	0,049	0,835
Tr:Pe:Te	2	3408,333	0,150	0,863	8195,854	0,334	0,725	5682,885	0,124	0,885
Tr:Lo:Pe	4	31003,958	1,361	0,328	15739,302	0,642	0,648	127317,167	2,779	0,102
Tr:Lo:Pe:Te	8	22777,833	0,561	0,806	24512,240	0,736	0,659	45820,375	0,557	0,810
Resíduo	72	40594,785			33298,535			82302,059		

As três espécies constantes mostraram respostas semelhantes às dos táxons numericamente dominantes, sem quaisquer reduções ou variações significativas que pudessem ser atribuídas ao tratamento experimental (Figura 5 e Tabela VII). Houve diferenças significativas nas densidades médias entre áreas, principalmente no caso de *Pseudolella* sp., com densidades relativamente elevadas e constantes nas áreas 1 e 2 e muito baixas na área 3.

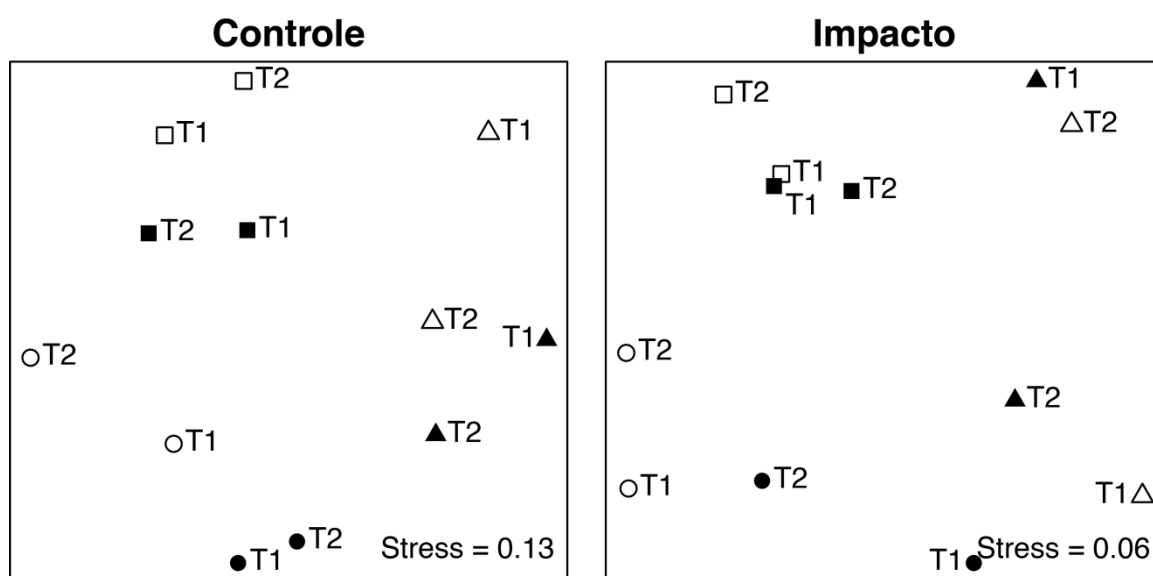


**Figura 7** Variação das densidades médias (+EP) dos táxons constantes nas áreas controle e impacto em todo o período de estudo. Área 1 representada pela cor preta, área 2 representada pela cor cinza e área 3 representada pela cor branca.

**Tabela VII** Análises de variância para os resultados encontrados para as densidades médias dos gêneros constantes (*Metachromadora* sp, *Parodontophora* sp e *Pseudolella* sp). Existem 2 tratamentos (Tr) e 2 períodos (Pe). Esses dois fatores são fixos. Existem 3 baixios para o Controle e 3 baixios para o Impacto; esses são fatores aleatórios de locais (Lo) aninhados nos tratamentos. Foram feitas 2 amostragens antes e 2 amostragens depois; esses representam um fator fixo de Tempo aninhado no Período. Foram feitas n= 4 réplicas em cada local e tempo de coleta.

		<i>Metachromadora</i>			<i>Parodontophora</i>			<i>Pseudolella</i>		
		sp			sp			sp		
	Gl	Média dos quadrados	F Valor	Pr(>F)	Média dos quadrados	F Valor	Pr(>F)	Média dos quadrados	F Valor	Pr(>F)
Tr	1	6936,000	0,048	0,837	2,651	0,231	0,656	7,221	0,015	0,907
Pe	1	2301,042	0,100	0,768	3,757	4,464	0,102	5,995	1,153	0,343
Tr:Lo	4	144438,740	23,049	***	11,477	5,558	***	468,159	40,520	***
Pe:Te	2	5271,042	0,370	0,702	0,626	0,250	0,784	6,797	0,475	0,638
Tr:Pe	1	9841,500	0,426	0,550	2,675	3,178	0,149	7,624	1,467	0,292
Tr:Pe:Te	2	22095,083	1,553	0,269	1,459	0,584	0,580	5,352	0,374	0,699
Tr:Lo:Pe	4	23122,865	1,625	0,259	0,842	0,337	0,846	5,197	0,363	0,828
Tr:Lo:PeTe	8	14228,656	2,271	0,032	2,500	1,211	0,305	14,310	1,239	0,290
Resíduo	72	6266,618			2,065			11,554		

Assim como as análises univariadas, a análise de proximidade evidenciou uma marcada variabilidade entre as áreas (Figura 6).



**Figura 8** Escalonamento multidimensional não-métrico (MDS) baseado em matrizes de similaridade de Bray-Curtis feitas a partir da análise de proximidade da associação de nematoides antes e depois do derrame experimental (Antes, Local 1 = □, Antes, Local 2 = ○, Antes, Local 3 = △, Depois, Local 1 = ■, Depois, Local 2 = ●, Depois, Local 3 = ▲).

## Discussão

Os resultados encontrados não refutam a hipótese central do trabalho, pois não foram identificadas alterações na estrutura das associações de nematoides que pudessem ser inequivocamente correlacionadas com a contaminação experimental por óleo diesel, pelo menos nas escalas espaciais e temporais adotadas. O modelo manipulativo M-BACI (KEOUGH & MAPSTONE 1997, UNDERWOOD 2000, DOWNES et al., 2004) mostrou que as diferenças encontradas se deveram mais à variabilidade espacial e heterogeneidade entre áreas do que ao derrame experimental propriamente dito. Não foram registrados reduções ou aumentos significativos nas densidades de táxons dominantes ou constantes após o derrame experimental, com exceção da Área2, situada na Ilha Rasa da Cotinga, onde houve uma diminuição na densidade total de nematóides, que refletiu as respostas dos gêneros *Parodontophora* sp, *Terschellingia* sp e *Spirinia* sp logo após o impacto, ainda detectada no primeiro dia, seguida por uma rápida recuperação no segundo dia. Esse tipo de resposta é definido por UNDERWOOD (2000) como uma perturbação “de pulso”, ou seja, um efeito de curto prazo com uma repentina queda da densidade de organismos, seguida por uma rápida recuperação.

A rápida recuperação das comunidades bênticas após distúrbios em pequena escala é reconhecida na literatura e até mesmo reportada em experimentos realizados na Baía de Paranaguá (FARACO & LANA, 2003). Esta rápida recuperação normalmente é associada à migração ativa de animais juvenis e adultos vindos de áreas adjacentes ao experimento (NEGRELLO FILHO et al., 2006), ao recrutamento larval (CARMAN et al., 2000) ou à tolerância a compostos tóxicos pelas espécies recolonizadoras (SCHRATZBERGER et al., 2003). No caso de animais pequenos desprovidos de desenvolvimento larval, como os nematoides, deve ser igualmente considerada a possibilidade de transporte passivo de adultos e juvenis por correntes desde áreas próximas. Como as escalas temporais adotadas no experimento foram muito curtas, não houve tempo suficiente para o desenvolvimento direto e recrutamento de juvenis. Neste contexto, a persistência ou rápida recolonização das associações afetadas certamente se deu pelo fato das espécies dominantes e constantes serem tolerantes a pequenas concentrações de óleo ou por terem rapidamente migrado ou sido transportadas passivamente desde áreas adjacentes.

O número total de táxons não sofreu alterações significativas durante todo o experimento, embora a segunda área se mostrasse mais diversa, novamente evidenciando a importância do gradiente espacial como fonte de variabilidade da fauna. As densidades dos táxons dominantes (*Terschellingia* sp, *Spirinia* sp e *Sabatieria* sp) também não sofreram alterações significativas que pudessem ser atribuídas ao derrame experimental de óleo. As densidades de *Terschellingia* sp variaram significativamente entre os tempos, independente do

tratamento ou da área, o que sugere alguma alteração ambiental que afetou todos os tratamentos e áreas de maneira parecida. Assim como ocorreu com os táxons dominantes, não foram registradas variações significativas nas densidades dos gêneros constantes *Pseudolella* sp, *Parodontophora* sp e *Metachromadora* sp como decorrência do derrame experimental de óleo. A variabilidade espacial novamente se mostrou mais importante, sendo encontradas diferenças significativas entre as áreas.

O escalonamento multidimensional não-métrico (MDS) mostrou claramente a separação das áreas experimentais, indicando que a variabilidade espacial na estrutura da associação foi mais importante do que aquela eventualmente introduzida pelo derrame de óleo. A análise multivariada reforça o padrão encontrado nas análises univariadas que, em praticamente todos os casos, mostraram diferenças significativas entre áreas.

Esta variabilidade entre áreas está provavelmente relacionada com distintas forçantes ambientais atuando em cada baía. Foi evidente o gradiente de salinidade entre as áreas, com maiores valores na área mais externa (Área 1) e menores valores na mais interna (Área 3). Este padrão é ainda reforçado pelos resultados da análise dos componentes principais (PCA), que também mostrou elevada heterogeneidade entre as áreas, com as características ambientais influenciando de maneira diferente cada uma delas.

As análises de hidrocarbonetos indicaram que os tratamentos experimentais foram efetivamente contaminados pelo derrame de óleo diesel, embora a persistência destes contaminantes tenha também variado significativamente entre áreas. De acordo com VOLKMAN et al., (1992), valores inferiores a 10 µg.g-1 indicam regiões não impactadas por hidrocarbonetos, enquanto valores superiores a 100 µg.g-1, juntamente com a presença de mistura complexa não resolvida (MCNR), indicam contaminação por petróleo. Todos os tratamentos controle apresentaram valores abaixo de 10 µg.g-1, indicando ausência de impacto por hidrocarbonetos. Nenhum dos tratamentos impacto apresentou valor superior a 100 µg.g-1. Na Área 2, tratamento impacto +1 (30,8 µg.g-1), Área 1, tratamento impacto +1 (10,7 µg.g-1) e Área 3, tratamento impacto +1 (16,4 µg.g-1), todos com presença de MCNR, indicaram pequenas alterações do ambiente.

A presença de MCNR normalmente está associada com resíduos degradados ou intemperizados do petróleo, por apresentarem moléculas muito resistentes à biodegradação e se acumularem nos sedimentos (READMAN et al., 2002; AZIMI et al., 2005). Apenas nos tratamentos impacto +1 da Área 1, impacto +1 da Área 2 e impacto +1 da Área 3 foi verificada a presença de MCNR, todas excedendo 60% do valor dos alifáticos totais, indicando o impacto por hidrocarbonetos do petróleo.

O índice preferencial de carbono (IPC) é utilizado para determinar a origem dos compostos, levando em consideração as concentrações dos hidrocarbonetos de cadeias carbônicas ímpares sobre as cadeias carbônicas pares nos n-alcenos de maior massa molecular

(C25-C34) (WANG et al., 1999). Valores em torno de 1,0 e altas concentrações de alifáticos totais indicam origem antrópica dos n-alcenos, provenientes de contaminação petrogênica (WANG et al., 1999), enquanto valores maiores do que 4,0 indicam origem biogênica dos n-alcenos, associada ao aporte terrígeno (HOSTETTLER et al., 1999). O IPC variou de 5,81 a 6,31 antes do derrame experimental (média:  $6,01 \pm 0,2$ ) nos tratamentos controle e 5,64 a 6,40 (média:  $5,97 \pm 0,32$ ) nos tratamentos impacto, indicando que em todas as situações antes do derrame os hidrocarbonetos eram de origem biogênica essencialmente terrígenos. Após o derrame, o valor do IPC se aproximou de 1,0 nos tratamentos impacto +1 Área 2 e impacto +1 Área 3, indicando a influência do derrame de óleo nessas áreas.

A razão entre as concentrações dos isoprenóides pristano e fitano também tem sido utilizada para discriminar a origem dos hidrocarbonetos alifáticos no ambiente marinho. O pristano está associado a hidrocarbonetos de origem natural e é encontrado em maiores quantidades do que o fitano, composto associado a ambientes redutores e também presente no petróleo bruto, por isso valores próximos a 1,0 indicam hidrocarbonetos de origem petrogênica, enquanto entre 2,0 e 7,0 indicam origem biogênica (MEDEIROS et al., 2005). Todos os tratamentos, incluindo controle e impacto, apresentaram valores próximos de 1,0, indicando a presença de matéria orgânica associada ao petróleo. Entretanto, esse índice deve ser usado com ressalvas na área controle, pois na maioria dos pontos as concentrações foram muito baixas ( $<0,010 \mu\text{g.g}^{-1}$ ).

A razão TAR (Terrestrial Aquatic Ratio) auxilia na distinção da origem da matéria orgânica natural, entre marinha e terrestre, presente no ambiente marinho, com altos valores indicando a predominância de matéria orgânica de origem terrígena (PETERS et al., 2005). Nos tratamentos controle, essa razão variou de 4,35 a 20,9 (média:  $11,5 \pm 6,84$ ) e nos tratamentos impacto de 0,84 a 19,7 (média:  $7,7 \pm 8,07$ ), indicando que a matéria orgânica natural é oriunda de fontes terrestres em todas as áreas.

Análises descritivas ou experimentais dos efeitos de derrames de óleo sobre a meiofauna geraram resultados contraditórios ou inconsistentes. Alguns trabalhos relataram diminuições nas densidades e diversidade de táxons enquanto outros não registraram efeitos significativos ou até reportaram aumentos nas densidades de organismos. FLEEGER & CHANDLER (1983) realizaram um experimento com o derrame de óleo cru em um banco de *Spartina alterniflora* na Louisiana e chegaram a registrar um aumento nas densidades dos principais grupos da meiofauna. MAHMOUDI et al (2005) em um experimento com microcosmos encontrou respostas diferenciadas para diferentes espécies. Algumas espécies se mostraram sensíveis aos efeitos do óleo e foram eliminadas nos tratamentos impactados, enquanto outras espécies tiveram suas densidades aumentadas, o que pode sugerir comportamento oportunista. DONOVARO et al (1995) registraram diminuição nas densidades da maioria dos táxons e definiram a meiofauna como sendo muito sensível ao impacto por

óleo.

As áreas experimentais sofrem constante influência da maré, além de se encontrarem próximo à desembocadura de rios, o que pode acelerar os processos de diluição e dispersão do óleo. Estas condições podem também favorecer uma rápida recolonização de organismos provenientes de áreas próximas. THOMAS & LANA (2011) mostraram que nematoides da mesma região podem se deslocar por até 2 metros, carregados por correntes na coluna d'água, durante um único evento de maré. Esta distância seria suficiente para que organismos de outras áreas chegassem e recolonizassem rapidamente os tratamentos impactados em poucas horas.

Em resumo, a análise experimental mostrou que associações locais de nematoides comportaram-se de forma resiliente, sendo capazes de suportar pequenas concentrações de hidrocarbonetos ou de recolonizar rapidamente áreas impactadas. A rápida recuperação de áreas impactadas está provavelmente associada com a dinâmica local, que favorece que o poluente se disperse devido à grande influência de correntes de maré, além de possibilitar uma rápida recolonização da meiofauna.

## **Conclusões**

Os resultados encontrados reforçam a ideia de que, apesar de considerados bons indicadores de estresse ambiental, os nematoides de vida livre marinha são capazes de tolerar baixas concentrações de hidrocarbonetos. Não foram identificadas respostas significativas devido ao derrame experimental de óleo diesel, sugerindo que as associações locais são resilientes ou tolerantes a pequenos eventos de contaminação. Esses resultados também reforçam a necessidade de serem utilizados delineamentos experimentais robustos, para que não sejam confundidos os efeitos do impacto com a variabilidade natural esperada, o que acaba dificultando a detecção da perturbação.

Avaliações experimentais futuras deveriam empregar maiores quantidades de óleo, para uma simulação mais adequada de derrames reais. Da mesma forma, a simulação de impactos do tipo crônico, com derrames experimentais sucessivos, poderia induzir respostas distintas ou mais significativas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andersen, L. E., Melville, F. & Jolley, D., 2008. An assessment of an oil spill in Gladstone, Australia – Impacts on intertidal areas at one month post-spill. **Marine Pollution Bulletin** 57:607–615.

Ansari, Z.A., Farshchi, P. & Badesab, S. 2010. Response of meiofauna to petroleum hydrocarbon of three fuel oils. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 80:138–143.

Azimi, S., Rocher, V., Muller, M., Moilleron, R. & Thévenot, D. R. 2005. Sources, distribution and variability of hydrocarbons and metals in atmospheric deposition in a urban area (Paris, France). **Science of the Total Environment**, 337: 223-239.

Beyrem H., Louati H., Essid N., Aïssa P. & Mahmoudi E. 2010. Effects of two lubricant oils on marine nematode assemblages in a laboratory microcosm experiment. **Marine Environmental Research**, 69:248-253.

Bhattacharyya, S., Klerks, P.L. & Nyman, J., A. 2003. Toxicity to freshwater organisms from oils and oil spill chemical treatments in laboratory microcosms. **Environmental Pollution**, 122: 205–215.

Boufahja F, Hedfi A, et al. 2011. Experimental validation of the "relative volume of the pharyngeal lumen (RVPL)" of free-living nematodes as a biomonitoring index using sediment- associated metals and/or Diesel Fuel in microcosms. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 399:142– 150.

Bongers T. & Ferris H. 1999. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. **Trends in Ecology and Evolution**, 14:224-228.

Bongers T., Alkemade R. & Yeates G., W. 1991. Interpretation of disturbance-induced maturity decrease in marine nematode assemblages by means of the Maturity Index. **Marine Ecology Progress Series**, 76:135-142.



Botello, A. V. & Macko, S. A., 1982. Oil pollution and the carbon isotope ratio in organisms and recent sediments of coastal lagoons in the Gulf of Mexico. **Oceanologica Acta**, SP:55-62.

Boucher, G. 1980. Impact of Amoco Cadiz oil spill on intertidal and sublittoral meiofauna. **Marine Pollution Bulletin**, 11:95-101.

Carman, K. R., Fleeger, J. W., & Pomarico, S., M. 2000. Does historical exposure to hydrocarbon contamination alter the response of benthic communities to diesel contamination? **Marine Environmental Research**, 49: 255-278.

Chung, I. Y., Cho, K. J., Kiyonori, H., Mukai, T., Nishijima, W., Takimoto K. & Okada, M. 2004. Effects of oil spill on seawater infiltration and macrobenthic community in tidal flats. **Marine Pollution Bulletin**, 49: 959–963.

Danovaro, R., Fabiano, M. & Vincx, M. 1995. Meiofauna response to the Agip Abruzzo oil spill in subtidal sediments of the Ligurian Sea. **Marine Pollution Bulletin**, 30:133–145.

Degrise, A. 1969. Redescription ou modification de quelques techniques utilisées dans l'étude des nématodes phytoparasitaires. **Meded Rijksfac Landbouwwet Gent** 34:251-359.

Downes, B. J., Barmuta, L. A., Fairweather, P. G., Faith, D. P., Keough, M. J., Lake, P. S., Mapstone, B. D. & Quinn, G. P. 2004. **Monitoring Ecological Impacts: Concepts and practice in flowing Waters**. Cambridge University Press. UK.

Edgar, G. J., Kerrison, L., Shepherd, S. A. & Toral-Granda, M. V. 2003. Impacts of the Jessica oil spill on intertidal and shallow subtidal plants and animals. **Marine Pollution Bulletin**, 47:276-283.

Elmgren, R., Hansson, S., Larsson, U., Sundelin, B. 1980. Impact of deep soft bottoms. Pp 97-126. In: Kineman, J. J., Elmgren, R., Hansson, S. (eds.) **The Tsesis oil spill. Report of the first year scientific study (October 1977 to December 1978)**. University Stockholm, Sweden

Faraco, L. F. D. & Lana, P. C. 2003. Response of polychaetes to oil spills in natural and defaunated subtropical mangrove sediments from Paranaguá bay (SE Brazil). **Hydrobiologia**, 496:321-328.

Fleeger J. W. & Chandler G. T. 1983. Meiofauna responses to an experimental oil spill in a Louisiana salt marsh. **Marine Ecology Progress Series**, 11:257-264 .

Glasby, T. M. & Underwood, A. J, 1996. Sampling to differentiate between pulse and press perturbations. **Environmental Monitoring and Assessment**, 42:241-252.

Gomez Gesteira, J. L. & Dauvin, J. C. 2000. Amphipods are good bioindicators of the impact of oil spills on soft-bottom macrobenthic communities. **Marine Pollution Bulletin**, 40:1017-1027.

Hostettler, F. D., Pereira W. E., Kvenvolden K. A., Van Geen, A., Luoma, S. N., Fuller C. C. & R. Anima. 1999. A record of hydrocarbon input to San Francisco Bay as traced by biomarker profiles in surface sediment and sediment cores. **Marine Chemistry**, 64: 115-127.

Jensen, B. K., Bodennec, G. & Desmarquest, J. P. 1986. Microbial changes in an intertidal sediment after an experimental oil spill. **Ophelia**, 26:255-267.

Kennedy, A.D. & Jacoby, C. A. 1999. Biological indicators of marine environmental health: meiofauna – a neglected benthic component? **Environmental Monitoring and Assessment**, 54:47–68

Keough, M. J. & Mapstone B. D. 1997. Designing environmental monitoring for pulp mills in Australia. **Water Science and Technology**, 35:397–404.

Lana, P. C., Marone, E., Lopes, R. M. & Machado, E. C. 2001. The Subtropical Estuarine Complex of Paranaguá Bay, Brazil. In: Seeliger, U. & Kjerfve, B. (eds) **Coastal Marine Ecosystems of Latin America**, 144:131-145.

Liu, X. S. 2009. Response of Meiofauna with Special Reference to Nematodes upon Recovery from Anthropogenic Activities in Subtropical Waters of Hong Kong. **PhD. Thesis**. University of Hong Kong, Hong Kong 385 p.

Lorenzen C. J. 1967. Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrometric equations. **Limnology and Oceanography**, 12:343-346.

Lu, L. & Wu, R. S. S. 2006. A field experimental study on recolonization and succession of macrobenthic infauna in defaunated sediment contaminated with petroleum hydrocarbons. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 68:627-634.

Mahmoudi E, Essid N, Beyrem H, et al, 2005. Effects of hydrocarbon contamination on a free living marine nematode community: Results from microcosm experiments. **Marine Pollution Bulletin**, 50:197-1204.

Mariano, A.J., Kourafalou, V.H., Srinivasan, A., Kang, H., Halliwell, G.R., Ryan, E.H. & Roffer, M. 2011. On the modeling of the 2010 Gulf of Mexico Oil Spill. **Dynamics of Atmospheres and Oceans**, 52:322-340.

Medeiros, P. M., Bicego, M. C., Castelao, R. M., Del Rosso, C., Fillmann, G. & Zamboni, A. J. 2005. Natural and anthropogenic hydrocarbon inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. **Environment International**, 31: 77-87.

Morales-Caselles, C., Martín-Díaz, M.L., Riba, I., Sarasquete, C. & DelValls, A. T. 2008. Sublethal responses in caged organisms exposed to sediments affected by oil spills. **Marine Pollution Bulletin**, 72: 819–825.

NegrelloFilho, O. A., Underwood, A. J. & Chapman M. G. 2006. Recolonization of infauna on a tidal flat: An experimental analysis of modes of dispersal. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 328: 240–250.

Noernberg, M.A., Lautert, L. F. C., Araújo, A. D., Marone, E., Angelotti, R., Netto Jr, J. P. B. & Krug, L. A. 2006. Remote sensing and GIS integration for modelling the Paranaguá Estuarine Complex – Brazil. **Journal of Coastal Research**, 39: 1627-1631.

Noernberg, M. A. & Lana, P.C. 2003. A sensibilidade de manguezais e marismas a impactos por óleo: fato ou mito? Uma ferramenta para a avaliação da vulnerabilidade de sistemas costeiros a derrames de óleo. **Geographares**, 3: 108-122.

Ocon, C.S., Rodrigue Capítulo, A. & Paggi A. C. 2008. Evaluation of zoobenthic assemblages and recovery following petroleum spill in a coastal area of Rio de la Plata estuarine system, South America. **Environmental Pollution**, 156: 82-89.

Platt, H. M. & Warwick, R. M. 1983. **Free-living Marine Nematodes (Part I British Enoplids) Synopses of the British Fauna (New series) n. 28.**

Platt, H. M. & Warwick, R. M. 1988. **Free-living Marine Nematodes (Part II British Chromadorids) Synopses of the British Fauna (New series) n. 38.** 502p.

Peso-Aguiar, M. C., Smith, D. H., Assis, R. C. F., Santa-Isabel, L. M., Peixinho, S., Gouveia, E. P., Almeida, T. C. A., Andrade, W. S., Carqueija, C. R. G., Kelmo, F., Carrozo, G., Rodrigues, C. V., Carvalho, G. C. & Jesus, A. C. S. 2000. Effects of petroleum and its derivatives in benthic communities at Baía de Todosos Santos/Todosos Santos Bay, Bahia, Brazil. **Aquatic Ecosystem Health**, 3: 459-470.

Peters, K. E., Walters, C. C. & Moldowan, J. M. 2005. The biomarkers guide: Biomarkers and isotopes in the petroleum exploration and earth history. **Cambridge University Press**, 1155p.

Readman, J. W., Fillmann, G., Tolosa, I., Bartocci, J., Villeneuve, J. P., Catinni, C. & Mee, L. D. 2002. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. **Marine Pollution Bulletin**, 44: 48-62.

Sanz-Lázaro, C. & Marín, A. 2009. A manipulative field experiment to evaluate an integrative methodology for assessing sediment pollution in estuarine ecosystems. **Science of the Total Environment**, 407:3510–3517.

Schratzberger, M., Fabien, D, Wall, CM, Kilbride, R, Macnaughton, SJ, Boyd, SE, Rees, HL, Lee, K, Swannell, RPJ, 2003. Response of estuarine meio- and macrofauna to in situ bioremediation of oil-contaminated sediment. **Marine Pollution Bulletin**, 46:430–443.

Somerfield, P. J. & Warwick, R. M. 1996. Meiofauna in marine pollution monitoring programmes: a laboratory manual. **MAFF Directorate of Fisheries Research Technical Series**, p.71.

Strickland J. H. D. & Parsons T. R. 1972. **A practical handbook of seawater analysis** (2nd ed). Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, 310 p.

Sun, B. & Fleeger, J. W. 1994. Field experiments on the colonization of meiofauna into sediment depressions. **Marine Ecology Progress Series**, 110:167-175.

Thomas, M. C. & Lana, P. C. 2011. A new look about nematode dispersal. **Zoologia**, 28:449-456.

Underwood, A. J. 2000. Importance of experimental design in detecting and measuring stresses in marine populations. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, 7:3-24.

Volkman, J. K., Holdworth, G. D., Neill, G. P. & Bavor Jr, J. H. 1992. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. **Science of Total Environment**, 112: 203-219.

Wang, Z., Fingas, M. & Page, D. S. 1999. Oil spill identification. **Journal of Chromatography A**, 843: 369-411.

Warwick, R. M.; Platt, H. M.; Somerfield, P. J, 1998. **Free-living marine nematodes. Part III: Monhysterids. Synopses of the British fauna (new series), n. 53.**

Zakir, A.A. & Ingole, B., 2002. Effect of an oil spill from M V Sea Transporter on intertidal meiofauna at Goa, India. **Marine Pollution Bulletin**, 44: 396-402.

Zenetos, A., Hatzianestis, J., Lantzouni, M., Simboura, M., Sklivagou, E. & Arvanitakis, G. 2004. The Eurobulker oil spill: mid-term changes of some ecosystem indicators. **Marine**

**Pollution Bulletin**, 48:122–131.